重金属 Cd^{2+} 对拟水狼蛛体内金属硫蛋白含量及其生长发育的影响

张征田[1]，余明玉[2]，庞振凌[1]，夏　敏[1]，杜瑞卿[1]，杨方方[1]，彭　宇[3,*]
（1. 南阳师范学院生命科学与技术学院，河南南阳 473061；2. 南阳师范学院成人教育学院，河南南阳 473061；
3. 湖北大学生命科学学院，武汉 430062）

摘要：为了明确重金属 Cd^{2+} 对拟水狼蛛 *Pirata subpiraticus* 体内金属硫蛋白(metallothionein, MT)含量及其生长发育的影响，在室内条件下用 5 个不同浓度(0, 10, 20, 40 和 80 μg/g)的 Cd^{2+} 培养的黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 饲喂从 5 种不同生境下(S1, S2, S3, S4 和 S5)采集的拟水狼蛛性成熟雌蛛产卵孵化的幼蛛，待幼蛛性成熟后取所得雌蛛成蛛采用原子吸收光谱法测定了 Cd^{2+} 诱导下拟水狼蛛体内金属硫蛋白含量及其存活率和生长率。结果表明：食物中过量的 Cd^{2+} 能够通过食物链进行传递并在拟水狼蛛体内积累，积累量随黑腹果蝇培养基中 Cd^{2+} 浓度的增加而增加，存在显著的浓度-效应关系。不同浓度的 Cd^{2+} 能够诱导拟水狼蛛体内 MT 不同的表达，表达量与 Cd^{2+} 浓度显著正相关($P<0.05$)。当浓度低于 20 μg/g 时，污染点(S1, S2, S3 和 S4)拟水狼蛛体内 MT 表达量显著高于参照组 S5($P<0.05$)；当高于 20 μg/g 时，所有样点拟水狼蛛体内 MT 表达量差异不显著($P>0.05$)。拟水狼蛛存活率和成长率随着 Cd^{2+} 浓度的升高呈下降趋势。据此认为，金属硫蛋白可能是蜘蛛耐受重金属污染的重要机制，与重金属具有一定浓度-效应关系。

关键词：拟水狼蛛；重金属污染；镉；金属硫蛋白；存活率；生长发育
中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2011)03-0293-06

Effects of cadmium on metallothionein content in *Pirata subpiraticus* (Araneae: Lycosidae) and its growth and development

ZHANG Zheng-Tian[1], YU Ming-Yu[2], PANG Zhen-Ling[1], XIA Min[1], Du Rui-Qing[1], YANG Fang-Fang[1], PENG Yu[3,*] (1. Department of Life Sciences and Technology, Nanyang Normal University, Nanyang, Henan 473061, China; 2. Department of Adult Education, Nanyang Normal University, Nanyang, Henan 473061, China; 3. Faculty of Life Sciences, Hubei University, Wuhan 430062, China)

Abstract: In order to explore the effects of cadmium on metallothionein (MT) content of *Pirata subpiraticus* and its growth and development, offsprings of *P. subpiraticus* female adults collected from five different habitats were fed on *Drosophila melanogaster* reared under 5 different Cd^{2+} concentrations in the laboratory. After sexually matured, then the MT content in body, growth rate and survival rate of these female spiders were tested. The results showed that excessive cadmium in food can be transferred by food chain and accumulated in *P. subpiraticus* and the accumulation level increased with cadmium concentration increasing. The induced expression level of MT was positively related with Cd^{2+} concentration ($P<0.05$). When Cd^{2+} concentration was less than 20 μg/g, the expression level of MT in *P. subpiraticus* from polluted sites (S1, S2, S3 and S4) was significantly higher than that from the control site S5 ($P<0.05$). On the contrary, when Cd^{2+} concentration was higher than 20 μg/g, however, the expression levels of MT in *P. subpiraticus* from all sites had no significant difference. The survival and growth rates of *P. subpiraticus* decreased with increasing Cd^{2+} concentration. It is so concluded that MT plays an important role in tolerance mechanism in *P. subpiraticus*, and MT increases significantly in a concentration-dependent manner with heavy metals.

Key words: *Pirata subpiraticus*; heavy metal pollution; cadmium; metallothionein; survival rate; growth and development

基金项目：南阳师范学院青年项目(QN2011001)；河南省重点学科项目(豫教高 2008169)
作者简介：张征田，男，1978 年生，湖北麻城人，硕士，讲师，主要从事动物生态学和害虫生物防治研究，E-mail: ztz0105@yahoo.com.cn
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: pengyu@hubu.edu.cn
收稿日期 Received: 2010-09-09; 接受日期 Accepted: 2011-01-11

金属硫蛋白(metallothionein, MT)是一类低分子量、富含半胱氨酸及大量活泼巯基、能被金属诱导并结合多个金属原子的特殊非酶蛋白质，广泛存在于动物、植物及微生物中。大量资料表明，MT具有清除体内自由基、解除重金属的毒性、参与体内微量元素的代谢、拮抗辐射及防止细胞癌变等重要生理功能。当生物体生活在重金属污染的环境中或受到重金属胁迫时，生物体可通过增加 MT 的表达量以抵御重金属的胁迫(Vašák, 2005)。镉(cadmium, Cd)是一种机体非必需元素，具有蓄积性，在人体内半衰期长，已被美国农业委员会列为当前最重要的一种农业环境污染物。镉毒性作用表现在多个方面，作用机制也非常复杂，但引起氧化损伤是 Cd^{2+} 对机体产生毒害的一个重要原因(Park *et al.*, 2001)。

蜘蛛作为害虫天敌，也处于食物链的一个环节，同样会通过呼吸、摄食、体表接触等遭受生态环境中重金属离子的入侵，尽管它自身具有抵御重金属的多种生理生化机制，但重金属仍会对其生长发育以及生殖繁育造成严重的毒害效应(Jung *et al.*, 2008; 张征田等, 2009, 2010)。近年来重金属对无脊椎动物体内 MT 表达影响的研究逐渐增多(Damiens *et al.*, 2006)，主要集中在水生动物和昆虫(Sterenborg and Roelofs, 2003; Sarkar *et al.*, 2004)，但对蜘蛛的报道较少(Eraly *et al.*, 2010)。拟水狼蛛 *Pirata subpiraticus* 是广布于河流、稻田和潮湿环境的一种游猎性优势蜘蛛(李剑泉等, 2002)。张征田等(2009, 2010)报道野外 5 个不同生境中拟水狼蛛分别受到环境中不同浓度 Cd, Pb, Cu 和 Zn 的胁迫生物学特性发生改变，体内生化防御氧化酶系也受到不同环境中重金属的严重影响。因此，有必要在人工模拟环境中进一步深入探讨不同环境中拟水狼蛛耐受重金属的深层防御机理。本实验主要在对南阳市煤矿、石油和铜矿等污染地研究的基础上，以不同生境中拟水狼蛛为实验材料，研究不同浓度 Cd^{2+} 诱导下拟水狼蛛体内 MT 表达量的差异以及 Cd^{2+} 积累对拟水狼蛛存活率和生长率的影响，为探讨害虫天敌对重金属的解毒机制提供一定的帮助，并为进一步研究重金属产生毒性效应的分子机理，及其对受重金属胁迫蜘蛛种群遗传进化的影响奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

1.1.1 拟水狼蛛的采集：为了减少实验误差，采集性成熟的拟水狼蛛雌蛛作为实验材料。于 2009 年 7 月利用 GPS 定位，记录采样点植被、环境因子(表 1)，在 5 个样点利用平行线跳跃法手工采集 30 头携带卵袋的拟水狼蛛雌蛛带回实验室，以其中的南阳宝天曼国家自然保护区葛条爬采集的标本为对照组。

表 1 采样方位及生境

Table 1 The sampling sites and habitats

样点编号 Site no.	样点 Sampling site	经纬度 Latitude/longitude	生境特征 Habitat characteristics
S1	桐柏金矿 Tongbai Jinkuang (TBJK)	32°27′25″N, 113°19′50″E	黄色粉砂土; 植被少, 以蒿草为主
S2	桐柏铜矿 Tongbai Tongkuang (TBTK)	32°32′49″N, 113°19′7″E	黄色粉砂土; 植被少, 以蒿草为主
S3	南阳油田 Nanyang Youtian (NYYT)	33°0′58″N, 112°27′10″E	耕作土, 砂质粘土; 以农作物小麦居多
S4	南阳军工厂 Nanyang Jungong (NYJG)	33°1′24″N, 112°29′52″E	砂粒粘土; 植被少, 以苔草为主
S5	宝天曼自然保护区 Baotianman nature reserve (BTM)	33°2′17″N, 111°56′22″E	砂质粘土; 植被丰富, 以荔枝草为主

1.1.2 黑腹果蝇的饲养：以不添加 $CdCl_2$ 的普通培养基上培养的黑腹果蝇为参照组($-Cd^{2+}$)；另在普通培养基上分别添加不同浓度的 Cd^{2+} 作为处理组，Cd^{2+}来源于$CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$，将 $CdCl_2$ 添加在普通培养基中，使 Cd^{2+}终浓度分别为 10, 20, 40 和 80 μg/g。

1.1.3 拟水狼蛛的饲养：将 5 个不同采样点采集到的拟水狼蛛分别做好标记后饲养在底部垫有湿海绵的玻璃指管(12 cm × 4 cm)中，食物为不添加 Cd^{2+}的培养基培养的黑腹果蝇，每天喂 1 次，所有蜘蛛均放置于 RXZ 智能人工气候箱(QHX-150A，江苏无锡上佳生物科技有限公司)内，饲养条件为温度 28℃，相对湿度 37%，光周期 12L∶12D。待孵化后，10 头雌蛛放入 -30℃冰箱冰冻冷藏备用，随

机选取 10 管中孵化的所有 2 龄幼蛛转到单独的玻璃指管中分别用不添加 Cd^{2+} 和添加 Cd^{2+} 培养的黑腹果蝇进行饲喂，待性成熟后分别记录成蛛数量和成蛛体重，计算成活率和生长率，成活率以饲喂后成蛛数与饲喂前幼蛛数比值表示，生长率以成蛛体重表示。然后将所有样本标记后放入 -30℃冰箱冰冻冷藏备用。由于 Wilczek 等(2008)报道金属硫蛋白含量与蜘蛛性别有关，因此仅测定雌蛛体内重金属和金属硫蛋白含量。

1.2　Cd^{2+} 含量及金属硫蛋白含量测定

参照何永吉等(2007)镉血红蛋白饱和法和原子吸收法并略加改进。分别取不添加 Cd^{2+} 和添加 Cd^{2+} 饲喂的雌成蛛 10 头，每个浓度重复 3 次，用 1% HNO_3 溶解去掉表皮毛上的重金属，电子天平称重，精确到 0.1 mg。每克湿组织加 4 mL Tris-HCl 缓冲液(pH 8.60, 0.01 mol/L)，冰浴匀浆。匀浆后于 12 000 g，4℃离心 15 min。取上清液 0.5 mL，加入 0.5 mL 20 mg/L 的 $CdCl_2$ 溶液，混合后室温放置 5 min，加入 0.2 mL 新配制的 2% (w/v)牛血红蛋白充分混匀，冰浴 5 min 后于沸水浴加热 2 min，冷却后于 10 000 g，4℃离心 10 min。重复加血红蛋白以后的步骤 2 次。上清液消化后，利用火焰原子吸收分光光度计(AA-6300，日本 SHIMDZU)通过火焰原子吸收法测定镉含量，再按照每分子 MT 结合 6 个镉原子换算成 MT 的含量。

MT 含量计算：MT 含量(nmol/g) = 1 000 × Cd^{2+} 含量(μg/g)/112.4/6

以上公式中 Cd^{2+} 的含量(μg/g) = 上清液中 Cd^{2+} 浓度(μg/mL) ×5 (mL) /组织质量(g)

1.3　数据统计与分析

样品中的 Cd^{2+} 浓度数据以及 MT 浓度经 $\lg(x+1)$ 转换后，所有数据采用 SPSS 10.0 软件进行 One-way ANOVA 中的 Duncan 氏多重比较和线性回归来进行分析。

2　结果与分析

2.1　拟水狼蛛体内 Cd^{2+} 含量

从表 2 可以看出，食物中过量的 Cd^{2+} 能够通过食物链进行传递并在拟水狼蛛体内积累，积累量随黑腹果蝇培养基中 Cd^{2+} 浓度的增加而增加。取食普通培养基的黑腹果蝇的拟水狼蛛体内 Cd^{2+} 积累量差异不显著。对于不同样点取食同浓度 Cd^{2+} 培养的黑腹果蝇拟水狼蛛体内积累 Cd^{2+} 含量，污染点(S1, S2, S3 和 S4)显著高于参照组(S5)($P<0.05$)。对于同一样点，线性回归分析结果表明，取食不同浓度 Cd^{2+} 培养的黑腹果蝇拟水狼蛛体内积累的 Cd^{2+} 含量与 Cd^{2+} 浓度显著正相关($r_1=0.798$, $P<0.05$; $r_2=0.854$, $P<0.05$; $r_3=0.932$, $P<0.01$; $r_4=0.865$, $P<0.05$; $r_5=0.980$, $P<0.01$)，存在显著的浓度-效应关系。

表 2　取食不同 Cd^{2+} 浓度培养下黑腹果蝇的拟水狼蛛体内 Cd^{2+} 含量(μg/g)

Table 2　Cd^{2+} contents (μg/g) in *Pirata subpiraticus* fed on *Drosophila melanogaster* reared under different Cd^{2+} concentrations

样点编号 Site no.	Cd^{2+} 浓度 Cd^{2+} concentration (μg/g)				
	0	10	20	40	80
S1	0.32 ±0.14 Aa	5.65 ±2.20 Ab	12.34 ±4.48 Ac	30.84 ±5.46 Ad	48.32 ±6.85 Ae
S2	0.30 ±0.20 Aa	6.12 ±3.10 Bb	14.22 ±4.54 Bc	32.22 ±6.56 Bd	44.45 ±7.54 Be
S3	0.38 ±0.18 Aa	6.32 ±3.40 Bb	15.45 ±5.82 Bc	34.50 ±7.44 Bd	50.12 ±4.32 Ae
S4	0.35 ±0.12 Aa	7.12 ±3.85 Cb	16.20 ±6.12 Bc	33.48 ±8.42 Bd	46.32 ±6.64 Ae
S5	0.30 ±0.10 Ba	2.36 ±0.85 Db	6.48 ±2.02 Cc	30.25 ±5.32 Ad	47.52 ±5.78 Ae

S1, S2, S3, S4 和 S5 分别代表不同采样点(详见表 1)；下同。S1, S2, S3, S4 and S5 stand for different sampling sites as defined in Table 1, respectively; the same below. 表中数据为平均值 ± 标准差(n = 10)，同一行平均数后不同的小写字母表示同一样点在不同浓度 Cd^{2+} 处理下 Cd^{2+} 积累量差异显著；同一列平均数后不同的大写字母表示不同样点在同种浓度 Cd^{2+} 处理下 Cd^{2+} 积累量差异显著(Duncan 氏多重比较，$P<0.05$)。The data in the table are mean ± *SD* (n = 10), and those followed by different small letters in the same row indicate Cd^{2+} accumulation was significantly different when *P. subpiraticus* was reared under different Cd^{2+} concentrations in the same site (Duncan's multiple range test, $P<0.05$), and those followed by different capital letters in the same column indicate Cd^{2+} accumulation was significantly different when *P. subpiraticus* was reared under the same Cd^{2+} concentration in different sites (Duncan's multiple range test, $P<0.05$).

2.2 Cd^{2+}诱导下拟水狼蛛体内 MT 含量

从表3 可以看出，不同浓度的Cd^{2+}能够诱导拟水狼蛛体内 MT 不同的表达，表达量随黑腹果蝇培养基中Cd^{2+}浓度的增加而增加。取食普通培养基的黑腹果蝇的拟水狼蛛体内 MT 表达量差异不显著($P>0.05$)。对于不同样点，当黑腹果蝇的培养浓度低于 20 μg/g 时，拟水狼蛛体内 MT 表达量污染点(S1, S2, S3 和 S4)显著高于参照组 S5($P<0.05$)；当高于 20 μg/g 时，所有样点拟水狼蛛体内 MT 表达量差异不显著($P>0.05$)。

对于同一样点，随着Cd^{2+}浓度升高，拟水狼蛛体内 MT 表达量也显著升高($P<0.05$)。线性回归分析结果表明，取食普通培养基的黑腹果蝇的拟水狼蛛体内 MT 表达量与Cd^{2+}浓度显著正相关($r_1=0.924$, $P<0.01$; $r_2=0.832$, $P<0.05$; $r_3=0.796$, $P<0.05$; $r_4=0.842$, $P<0.05$; $r_5=0.945$, $P<0.01$)，存在显著的浓度-效应关系。

表3 取食不同Cd^{2+}浓度培养下黑腹果蝇的拟水狼蛛体内 MT 含量(nmol/g)

Table 3 MT contents (nmol/g) in *Pirata subpiratICUS* fed on *Drosophila melanogaster* reared under different Cd^{2+} concentrations

样点编号 Site no.	Cd^{2+}浓度 Cd^{2+} concentration (μg/g)				
	0	10	20	40	80
S1	1.34 ±0.12 Aa	3.08 ±0.24 Ab	5.48 ±0.70 Ac	8.45 ±0.65 Ad	12.28 ±0.85 Ae
S2	1.23 ±0.10 Aa	3.10 ±0.32 Ab	5.85 ±0.76 Ac	8.84 ±0.71 Ad	11.56 ±0.80 Ae
S3	1.45 ±0.16 Aa	3.22 ±0.22 Ab	6.12 ±0.54 Ac	9.50 ±0.78 Ad	13.26 ±0.92 Ae
S4	1.30 ±0.14 Aa	3.40 ±0.26 Ab	6.50 ±0.52 Ac	8.20 ±0.60 Ad	10.86 ±0.78 Ae
S5	1.28 ±0.14 Aa	2.10 ±0.18 Bb	4.23 ±0.36 Bc	8.42 ±0.63 Ad	11.20 ±0.84 Ae

2.3 Cd^{2+}对拟水狼蛛存活率和生长率的影响

由图1 可知，拟水狼蛛存活率随着黑腹果蝇Cd^{2+}培养浓度的升高呈下降趋势。当培养浓度低于或等于 20 μg/g 时，所有样点拟水狼蛛存活率差异不显著($P>0.05$)，但存活率显著高于培养浓度为 40 和 80 μg/g 的($P<0.05$)。

由图2 可知，拟水狼蛛生长率随着黑腹果蝇Cd^{2+}培养浓度的升高呈下降趋势。当培养浓度低于或等于 20 μg/g 时，所有样点拟水狼蛛生长率差异不显著($P>0.05$)，但生长率显著高于培养浓度为 40 和 80 μg/g 的($P<0.05$)。

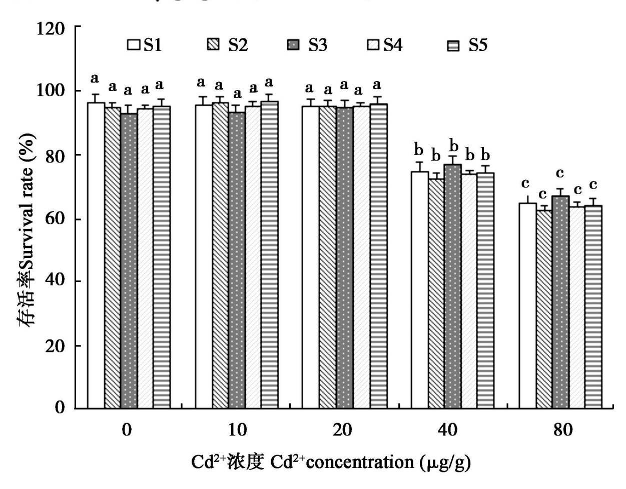


图1 取食不同Cd^{2+}浓度培养下黑腹果蝇的拟水狼蛛的存活率

Fig. 1 Survival rate of *Pirata subpiraticus* fed on *Drosophila melanogaster* reared under different Cd^{2+} concentrations

不同字母表示相同Cd^{2+}浓度下不同地点拟水狼蛛的存活率差异显著(Duncan 氏多重比较，$P<0.05$)；图 2 同。Means followed by different letters indicate significant difference in *P. subpiraticus* reared in the same Cd^{2+} concentration from different habitats (Duncan's multiple range test, $P<0.05$). The same for Fig. 2.

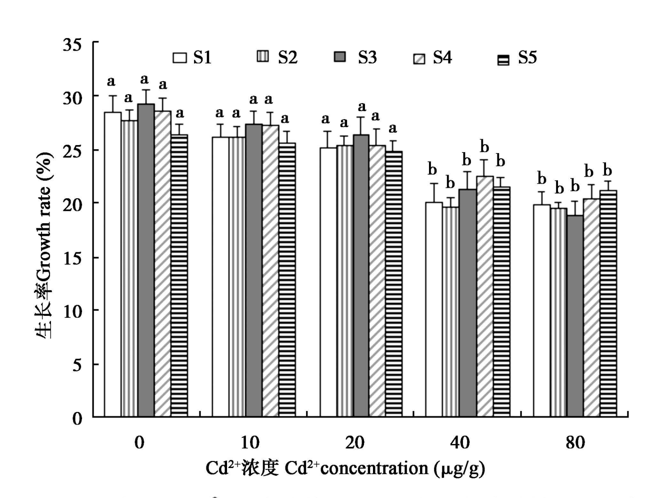


图2 取食不同Cd^{2+}浓度培养下黑腹果蝇的拟水狼蛛的生长率

Fig. 2 Growth rate of *Pirata subpiraticus* fed on *Drosophila melanogaster* reared under different Cd^{2+} concentrations

3 讨论

本研究在人工饲养条件下采用不同生境的拟水狼蛛 F_2 代作为试验对象，通过饲喂重金属镉 Cd^{2+} 培养的黑腹果蝇来模拟拟水狼蛛体内镉的累积情况。结果表明，食物中过量的 Cd^{2+} 能够通过食物链进行传递并在拟水狼蛛体内积累，积累量随黑腹果蝇培养基中 Cd^{2+} 浓度的增加而增加，存在显著的浓度-效应关系。这与刘雪梅等（2006）报道的土壤-作物-昆虫系统中镉在中华稻蝗 *Oxya chinensis* 体内的累积情况基本一致，也与其他高等动物对重金属的积累情况相吻合（王洁等，2007；贾秀英等，2010）。这进一步说明动物体内的镉含量主要受摄入食物中镉含量的影响，因此，可以推论蜘蛛摄入镉污染区生长的猎物，通过食物链进入体内导致机体内镉大量残留，生境不同，重金属累积量也不尽相同。

目前多种动物实验研究表明，MT 广泛地分布于动物的各种组织中，并具有广泛的生物学功能，其中较重要的作用是参与解除镉等重金属的体内毒性（Eraly *et al*.，2010）。许多重金属元素如锌、铜和镉等均能诱导 MT 的生物合成。本研究表明，不同浓度的 Cd^{2+} 能够诱导拟水狼蛛体内 MT 不同的表达，表达量与 Cd^{2+} 浓度显著正相关，当浓度低于 20 μg/g 时，污染点拟水狼蛛体内 MT 表达量显著高于参照组，当高于 20 μg/g 时，所有样点拟水狼蛛体内 MT 表达量差异不显著，进一步说明无论是何种环境，重金属都是影响有机体产生特殊防御蛋白的重要诱因，但是有个浓度阈值。这与李春娣等（2007）报道的 MT 的表达量与重金属胁迫浓度成线性相关一致，而与 Eraly 等（2010）不尽一致。Eraly 等（2010）认为重金属胁迫能显著提高动物体内 MT 的表达量，但与胁迫浓度不相关，这可能因为动物是一个复杂的有机体，对各种重金属毒害有一定的组织特异性。本实验测定的是生物全部组织样品，有可能掩盖了局部特征器官的一些显著反应。因此，重金属胁迫时间长短和动物组织特异性与 MT 的表达量的关系有待进一步研究。

动物体内的镉绝大部分是以 Cd-MT 状态存在的，只要细胞功能正常，就可以不断地被刺激表达出 MT，并与 Cd 等重金属发生结合，缓解重金属的毒性（Lazo *et al*.，1995）。MT 的含量与生物体内富集的金属含量保持一定相关性，但若暴露时间过长或者金属浓度过高，生物体的金属解毒机能也会受到限制，在宏观上表现出适应度的降低（Morgan *et al*.，2007）。本研究表明，尽管拟水狼蛛受到不同生境中不同浓度重金属镉的胁迫，在防御机制方面可能已经发生了改变，但在它们的后代中拟水狼蛛存活率和成长率随着 Cd^{2+} 浓度的升高依旧成下降趋势。这与 Morgan 等（2007）报道的物种在对抗重金属胁迫时往往表现出适应度的降低相吻合，进一步说明无论是野生环境因子还是人工环境因子，重金属都是影响拟水狼蛛甚至其他有机体生长发育的主要因素，而与 Eraly 等（2010）报道的重金属浓度对蜘蛛生长发育无影响的结论相反。这可能是因为尽管有机体产生 MT 是对抗重金属胁迫的重要机制之一，但是这种机制的有效发挥受到多种因子的制约，在长期受重金属污染时，个体表现出一定的地理适应性，种间综合防御机制具有差异性。而且还有可能动物在长期的受重金属胁迫过程中，种间局部基因的变异有时能更好地适应自然的选择（Roelofs *et al*.，2009），但是由于胁迫的复杂性和持续性，造成遗传机制的不成熟不稳定，还不足以对抗各种恶劣环境的因子的胁迫。因此引起动物对重金属污染适应性的更深层次原因将是下一步研究的重点。

参 考 文 献（References）

Damiens G，Mouneyrac C，Quiniou F，His E，Gnassia-Barelli M，Roméo M，2006. Metal bioaccumulation and metallothionein concentrations in larvae of *Crassostrea gigas*. *Environ. Pollut*.，140（3）：492－499

Eraly D，Hendrickx F，Bervoets L，Lens L，2010. Experimental exposure to cadmium affects metallothionein-like protein levels but not survival and growth in wolf spiders from polluted and reference populations. *Environ. Pollut*.，158：2124－2131

He YJ，Ma WL，Wang L，Wang Q，Zhang XB，2007. Metallothionein in different tissues of freshwater crab exposed to cadmium. *Chinese Journal of Zoology*，42（3）：48－53.［何永吉，马文丽，王兰，王茜，张晓博，2007. 镉诱导金属硫蛋白在华溪蟹组织中的表达. 动物学杂志，42（3）：48－53］

Jia XY，Shi CL，Liu XX，2010. Effects of cadmium on oxidative stress and metallothionein of liver in frog *Rana nigromaculata*. *Acta Ecologica Sinica*，30（2）：416－420.［贾秀英，施蔡雷，刘晓旭，2010. 镉致黑斑蛙肝脏氧化损伤与金属硫蛋白含量的变化. 生态学报，30（2）：416－420］

Jung MP，Kim ST，Kim H，Lee JH，2008. Species diversity and community structure of ground-dwelling spiders in unpolluted and moderately heavy metal-polluted habitats. *Water Air Soil Pollut*.，195：15－22.

Lazo JS, Kondo Y, Dellapiazza D, Michalska AE, Choo KH, Pitt BR, 1995. Enhanced sensitivity to oxidative stress in cultured embryonic cells from transgenic mice deficient in metallothionein I and II genes. *The Journal of Biological Chemistry*, 270 (10): 5506 – 5510.

Li CD, Yan W, Long AM, Ma FJ, Chen SY, 2007. Metal accumulation and MTLP induction in the digestive glands of *Perna viridis* exposed to Cu. *Environmental Science*, 28(8): 1788 – 1795. [李春娣, 颜文, 龙爱民, 马福俊, 陈绍勇, 2007. Cu 暴露条件下翡翠贻贝(*Perna viridis*)消化腺内金属和类金属硫蛋白的变化. 环境科学, 28(8): 1788 – 1795]

Li JQ, Shen ZR, Zhao ZM, Luo YJ, 2002. Biology and ecology of the wolf spider *Pirata subpiraticus*. *Acta Ecologica Sinica*, 22(9): 1478 – 1484. [李剑泉, 沈佐锐, 赵志模, 罗雁婕, 2002. 拟水狼蛛的生物学生态学特性. 生态学报, 22(9): 1478 – 1484]

Liu XM, Li LJ, Guo YP, Xi YY, Ma EB, 2006. Cadmium accumulation in *Oxya chinensis* in the ecosystem of soil-plant-insect. *Journal of Agro-Environment Science*, 25(2): 301 – 304. [刘雪梅, 李丽君, 郭亚平, 席玉英, 马恩波, 2006. 土壤-作物-昆虫系统中镉在中华稻蝗体内的累积. 农业环境科学学报, 25(2): 301 – 304]

Morgan AJ, Kille P, Stürzenbaum SR, 2007. Microevolution and ecotoxicology of metals in invertebrates. *Environmental Science and Technology*, 41: 1085 – 1096.

Park JD, Liu YP, Klaassen CD, 2001. Protective effect of metallothionein against the toxicity of cadmium and other metals. *Toxicology*, 163: 93 – 100.

Roelofs D, Janssens TK, Timmermans MJ, Nota B, Mariën J, Bochdanovits Z, Ylstra B, Van Straalen NM, 2009. Adaptive differences in gene expression associated with heavy metal tolerance in the soil arthropod *Orchesella cincta*. *Molecular Ecology*, 18: 3227 – 3239.

Sarkar S, Duttagupta AK, Mal TK, 2004. Effects of heavy metals on population growth and metallothionein gene expression in the mosquito *Culex quinquefasciatus*, from Calcutta, India. *Environ. Pollut.*, 127: 183 – 193

Sterenborg I, Roelofs D, 2003. Field-selected cadmium tolerance in the springtail *Orchesella cincta* is correlated with increased metallothionein mRNA expression. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33: 741 – 747

Vašák M, 2005. Advances in metallothionein structure and functions. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19: 13 – 17.

Wang J, Wang MS, Tang SX, Zhou ZL,2007. Influence of cadmium and lead to the metallothionein in the liver of the quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of East China Normal University (Natural Science)*, 2: 81 – 86. [王洁, 王明山, 唐思贤, 周忠良, 2007. 镉和铅对鹌鹑肝脏金属硫蛋白的诱导. 华东师范大学学报(自然科学版), 2: 81 – 86]

Wilczek G, Babczyńska A, Wilczek P, Dolezych B, Migula P, Młyńska H, 2008. Cellular stress reactions assessed by gender and species in spiders from areas variously polluted with heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 127 – 137.

Zhang ZT, Pang ZL, Liang ZA, Peng Y, Du RQ, 2010. Distribution of heavy metals in *Pirata subpiraticus* (Araneae: Lycosidae) and their effect on activities of antioxidant enzymes. *Acta Entomologica Sinica*, 53(6): 618 – 625. [张征田, 庞振凌, 梁子安, 彭宇, 杜瑞卿, 2010. 重金属在拟水狼蛛体内的分布及对其体内抗氧化酶活性的影响. 昆虫学报, 53(6): 618 – 625]

Zhang ZT, Xia M, Peng Y, Du RQ, 2009. Heavy metal levels in soil and their effects on biological characteristics of *Pirata subpiraticus* (Araneae: Lycosidae) in different habitats in Nanyang, Henan. *Acta Entomologica Sinica*, 52(9): 994 – 999. [张征田, 夏敏, 彭宇, 杜瑞卿, 2009. 河南南阳不同生境土壤重金属含量及其对拟水狼蛛生物学特性的影响. 昆虫学报, 52(9): 994 – 999]

(责任编辑: 赵利辉)